

Cited Reference ③

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-091466

(43)Date of publication of application : 06.04.2001

(51)Int.Cl.

G01N 21/75

(21)Application number : 11-272462

(71)Applicant : ALOKA CO LTD

(22)Date of filing : 27.09.1999

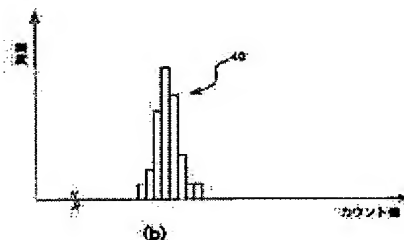
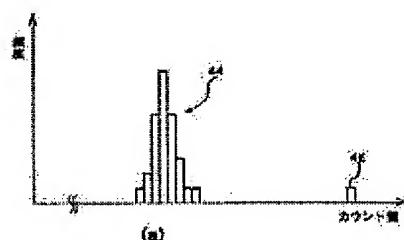
(72)Inventor : KUMAZAWA HIROKI

(54) CHEMILUMINESCENCE ANALYZER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To improve analysis accuracy by detecting and correcting the generation of pulsed noise in a measuring period in a chemiluminescence analyzer.

SOLUTION: A measuring period is divided into a plurality of small sections and the light emission intensity is measured for every small section. The distribution of a series of light emission intensity measured values is examined. The measured value of a small section without receiving any noise effect basically comprises a prescribed statistical distribution, e.g. a normal distribution based on the statistical dispersion of the generation and detection of photons. However, the measured value of a small section receiving the noise does not follow the statistical distribution and may be deviated from the distribution. This is detected by a statistical method such as an X2 examination. The measured value of the noise section is substituted for an estimate value to be fallen in the case where not receiving the effect of the noise, and after that, the measured values of the whole small sections are summed and the chemical luminescence in measured period is decided.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-91466

(P2001-91466A)

(43) 公開日 平成13年4月6日 (2001. 4. 6)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

データベース (参考)

G 0 1 N 21/75

G 0 1 N 21/75

B 2 G 0 5 4

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平11-272462

(22) 出願日 平成11年9月27日 (1999. 9. 27)

(71) 出願人 390029791

アロカ株式会社

東京都三鷹市牟礼6丁目22番1号

(72) 発明者 熊沢 弘樹

東京都三鷹市牟礼6丁目22番1号 アロカ
株式会社内

(74) 代理人 100075258

弁理士 吉田 研二 (外2名)

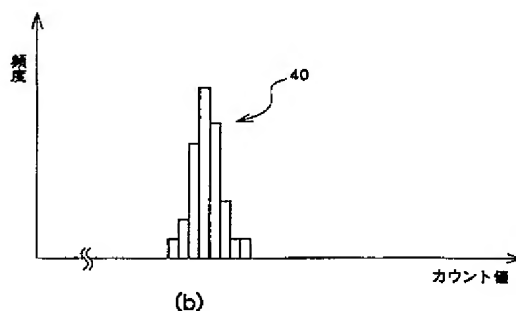
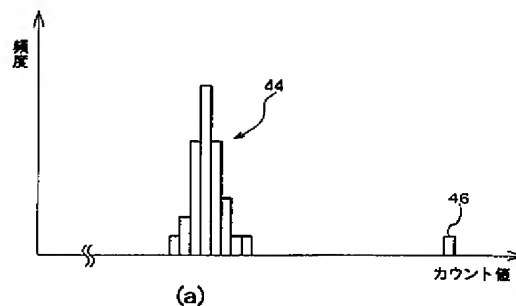
Fターム (参考) 2G054 AB05 EA01 EB03 FA12 JA01
JA05 JA20

(54) 【発明の名称】 化学発光分析装置

(57) 【要約】

【課題】 化学発光分析装置において計測期間中のパルス状のノイズの発生を検知、補正して、分析精度を向上する。

【解決手段】 計測期間を複数の小区間に分割し、各小区間毎に発光強度を測定する。これら一連の発光強度測定値の分布を調べる。ノイズの影響を受けない小区間の測定値は、フォトン発生、検知の統計的なばらつきに基づいて基本的に所定の統計的分布、例えば正規分布を構成する。しかし、ノイズを受けた小区間の測定値はその統計的分布に従わず、当該分布から外れ得る。これを χ^2 検定等の統計的手法により検知する。ノイズ区間の測定値は、ノイズの影響を受けなかった場合に採ったであろう推定値で置換され、しかる後、全小区間の測定値が合計され、計測期間中の化学発光量が決定される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 分析サンプルでの化学反応による発光量を計測する化学発光分析装置であって、計測期間を区分した複数の小区間毎の部分発光量を計測する発光計測手段と、前記部分発光量のデータ分布に基づいて、前記小区間のうちノイズを被ったノイズ区間を検出するノイズ区間検出手段と、を有することを特徴とする化学発光分析装置。

【請求項2】 請求項1記載の化学発光分析装置において、前記ノイズ区間の部分発光量の計測値をノイズを受けなかった場合の部分発光量の推定値に置換した上で各小区間の部分発光量を合計し、前記計測期間の発光量を決定する発光量決定手段を有することを特徴とする化学発光分析装置。

【請求項3】 請求項2記載の化学発光分析装置において、前記発光量決定手段は、前記ノイズ区間に対して、化学発光反応の経時変化特性を考慮して推定量を定め、を特徴とする化学発光分析装置。

【請求項4】 請求項1から請求項3のいずれかに記載の化学発光分析装置において、前記ノイズ区間検出手段は、前記各小区間の部分発光量を化学発光反応の経時変化特性に関し規格化し、当該規格化された部分発光量のデータ分布を求めること、を特徴とする化学発光分析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、分析サンプルからの化学発光を計測する化学発光分析装置に関し、特にノイズの影響を低減し精度を向上することに関する。

【0002】

【従来の技術】生体試料や環境試料の分析には、従来より化学発光分析が用いられている。この化学発光分析では、試料と試薬との化学反応により生じる光子がカウントされ、これにより試料中の目的物質成分の量や試料の活性を計測することができる。

【0003】光子の計数には、光電子増倍管やアパランシェ・フォトダイオードなどの光電変換素子が用いられる。これらの素子は、個々の光子から光電変換によって生じる電子を増倍して電流パルスとすることができ、この電流パルスが計数回路でカウントされる。

【0004】このように光子計数技術では、光子毎の信号パルスを得るために高倍率の増幅が行われるため、検出系へ侵入するノイズ、または検出系の擾乱によるノイズが増幅されて偽信号パルスを生じるおそれがある。これに対応するため、従来は、電磁遮蔽や電磁妨害対策部品を採用することにより検出系への電磁ノイズ

の侵入を防止したり、波高弁別回路の閾値電圧を調節することにより真の信号パルスとノイズに起因するパルスとを選り分けることが行われている。

【0005】従来の化学発光分析装置は、このようなノイズ低減技術を用い、閾値電圧を超える波高を有する信号パルスの数を所定の計測期間にわたって積算している。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】化学発光分析装置による測定結果は疾病診断の判断情報として利用されることもあるため、高い信頼性が要求される。医療関連機器のように高い信頼性が要求される装置に対しては電磁障害に関する要求基準が設けられ、当該装置はその基準に基づいて設計・製造される。しかし、現在の基準を満たす装置であっても、新しく登場する電子機器が新たなノイズ源となり、当該装置に影響を与える可能性は残る。そのため従来の化学発光分析装置は、予期しないノイズ源の影響を回避することが困難であるという問題を有していた。また従来の化学発光分析装置では、通常はその測定結果がノイズの影響を被っているかどうかを判断することも難しいという問題があった。

【0007】図5は、従来の化学発光分析装置の問題を説明するための化学発光強度の経時変化を示す模式図である。発光の計測期間は通常、経時変化のうち発光反応が安定している部分に設定される。同図に示す例では、反応開始後の発光強度特性曲線2の比較的速やかな立ち上がり期間の後に計測期間T（Tは例えば3秒）が設定され、その期間の発光強度変化4にノイズ6の影響による偽計数により発光強度が一瞬高まる部分が現れる様子が示されている。従来の装置は、計測期間Tに生じる信号パルスの積算値（図5において斜線部の面積に相当）を出力する。しかしその積算された計数値を見ただけではそれがノイズの影響を受けたものか否かを判別することは難しい。

【0008】本発明は上記問題点を解消するためになされたもので、測定中にノイズの影響を被ったかどうかを検出でき、またその影響を補正できる化学発光分析装置を提供し、高精度の化学発光分析を可能とすることを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明に係る化学発光分析装置は、分析サンプルでの化学反応による発光量を計測するものであって、計測期間を区分した複数の小区間毎の部分発光量を計測する発光計測手段と、前記部分発光量のデータ分布に基づいて、前記小区間のうちノイズを被ったノイズ区間を検出するノイズ区間検出手段とを有するものである。

【0010】本発明によれば、計測期間を区分した複数の小区間毎に部分発光量のデータが取得される。それら実測データは統計誤差を含み、それらは統計的な分布を

形成する。例えば、化学発光が計測期間において一定率で起こると見なせる場合には、その一定率を中心とした正規分布が形成され得る。一方、あるデータが分布の主要部分から大きくはずれ、発生確率が低い値である場合には、当該データは何らかの原因による異常なイベント、すなわちノイズイベントであると考えられる。また、データ分布が統計的に予想されるものと相違する異常な形状になる場合も、当該分布中のデータにノイズイベントが含まれていると考えられる。本発明では、このような部分発光量のデータ分布の異常に基づいて、ノイズを被ったデータが特定される。なお、複数の小区間のうちに異なる時間幅を有する場合には、例えば時間幅に関し規格化を行ったデータによってデータ分布が形成される。

【0011】他の本発明に係る化学発光分析装置は、前記ノイズ区間の部分発光量の計測値をノイズを受けなかった場合の部分発光量の推定値に置換した上で各小区間の部分発光量を合計し、前記計測期間の発光量を決定する発光量決定手段を有するものである。

【0012】本発明によれば、ノイズを被ったと判断された部分発光量の計測値がノイズ成分を含まない推定値に置換され、その上で各小区間の部分発光量を合計して計測期間の全発光量が求められる。これにより、ノイズ成分が低減された発光量が求められる。例えば、統計分布の最多出現値を推定値として定めることができる。

【0013】別の本発明に係る化学発光分析装置においては、前記発光量決定手段が、前記ノイズ区間に対して、化学発光反応の経時変化特性を考慮して推定量を定めることを特徴とする。

【0014】化学発光反応による発光率は、例えば、反応開始後に比較的速やかに立ち上がり、その後、極大値を経て比較的緩やかに減少するといった経時変化特性を有する。本発明によれば、化学発光反応の経時変化特性に対するノイズ区間の位置に応じて実測データを置換する推定値が定められ、例えば、化学発光反応が時間の経過に伴い低減する期間で計測された場合、ノイズ区間までの経過時間が長ければ長いほど、当該ノイズ区間の推定値は小さく定められる。

【0015】さらに別の本発明に係る化学発光分析装置においては、前記ノイズ区間検出手段が、前記各小区間の部分発光量を化学発光反応の経時変化特性に関し規格化し、当該規格化された部分発光量のデータ分布を求めることを特徴とする。

【0016】化学発光反応が経時変化特性を有する場合には、各小区間の部分発光量のばらつきは統計誤差以外に経時変化による発光量の変動成分を含む。すなわち、この場合の分布は正規分布等、統計理論における基本的な分布関数には一般に従わない。本発明によれば、各小区間の部分発光量の実測データを例えば、経時変化特性関数の各小区間の位置における値で除算するといった規

格化処理により、経時変化による変動が基本的に除去される。この規格化された部分発光量に基づいて統計理論における基本的な分布関数に従う分布を得ることができ、統計理論に基づいてノイズ区間を簡易にまた精度良く検出することができる。

【0017】

【発明の実施の形態】次に、本発明の実施形態について図面を参照して説明する。

【0018】図1は本発明の実施形態である化学発光分析装置の概略のブロック構成図である。試験管等の試料容器12には試料及び化学発光に必要な試薬が入れられる。化学発光反応としては例えばルミノール、没食子酸、シュウ酸ジエステルなどによる反応が用いられる。化学発光による目的物質の検出は、例えば酵素免疫定量法等の検出系に利用することができ、これにより目的とする抗原又は抗体の高感度な検出を行うことができる。本装置では、試料容器12の周囲にはライトガイドや光反射フィルム（図示せず）が配置され、試料容器12にて化学発光反応により放出された光子14が効率よく光電子増倍管16へ導かれる。光電子増倍管16は入射した光子14が光電変換して生じた電子を高圧電源回路18から供給される高電圧によって増倍し、電流パルスとして増幅器20へ出力する。この電流パルスは増幅器20にて、増幅された電圧パルスに変換される。

【0019】入射する光子に対応して光電子増倍管16から出力される電流パルスは、光電子増倍管16の増倍率に応じた所定範囲の電荷量を有する。一方、例えば、光電子増倍管16の増幅段の途中で生じたノイズ電子は、光子より低い増倍しか受けない。波高弁別回路22は、このような光子に応じた電圧パルスとノイズによる電圧パルスとのパルス高の差異に基づいて、ノイズイベントを除去する。すなわち、波高弁別回路22は、光子の入射により生じるパルスより低い所定の閾値電圧を設定され、それを超える電圧値を有するパルスが入力されると、所定電圧のロジックパルスを生成する。

【0020】計数回路24は、このロジックパルスをカウントし、そのカウント値をデータ処理部26へ出力する。本装置では、所定の計測期間Tに生じる発光量を計測する。この計測期間Tは例えば3秒に設定される。

【0021】本装置の特徴の一つは、計数回路24が、この計測期間Tをk分割した時間幅 ΔT ($\equiv T/k$)を設定され、この時間幅 ΔT の小区間毎の部分発光量に応じたカウント値を出力し、データ処理部26が後述するようにこれらk個のカウント値を統計的に処理する点にある。この統計処理の結果が有意なものとなるように、分割数kはある程度大きいことが望ましい。

【0022】さて、計数回路24から出力されるカウント値は幾つかの要因によってばらつく。その要因としては、光子の発生・検出がランダムであることによる

統計誤差、及び計測装置、計測方法や計測期間内における化学発光反応の経時変化による系統誤差が考えられる。これらのうち、フォトンのカウント値のばらつきは、基本的には二項分布、ポアソン分布で表されるが、カウントの平均値が数十以上であるならば近似的に正規分布として取り扱うことができる。正規分布は統計処理に適していることが知られており、そこで本装置では、各小区間に含まれるカウント値が正規分布に従う程度に大きな値となるように小区間の時間幅 ΔT を確保する。

【0023】上述のように k 、及び ΔT に含まれるカウント値はいずれもある程度大きいことが要求され、本装置では上記 $T=3$ 秒に対して、例えば $\Delta T=0.1$ 秒、 $k=30$ が設定される。

【0024】データ処理部26における処理は後述するが、その処理の際、データ処理部26は、データ記憶部28に格納された化学発光反応の条件とその経時変化との関係を必要に応じて参照する。

【0025】図2は、本装置の原理を説明する図であり、発光強度の経時変化を示す模式図である。この図に点線で示す発光強度特性曲線40は、反応開始後に速やかに立ち上がり、その後、極大値を経て比較的緩やかに減少するというものである。本装置では、発光強度特性曲線においてその変化率（微分値）が小さい領域に計測期間 T が設定される。同図には、計測期間が時間幅 ΔT の複数の小区間に分割された様子が示され、また各小区間での測定値が棒グラフで示されている。同図(a)は計測期間中にノイズの影響を受けた場合の測定値の変動、また同図(b)はノイズの影響を受けなかった場合の変動を示す。ちなみに、同図(a)に示す測定値42はノイズによる偽計数であり、実際にそれに相当するだけのフォトンが試料容器12から発生していることを意味しない。

【0026】図3は、図2に示す場合における小区間毎のパルスカウント値のヒストグラムであり、同図

(a)、(b)はそれぞれ図2(a)、(b)に対応するものである。ノイズの影響を受けていない場合には図3(b)に示すように、部分発光量のカウント値の分布40は正規分布、又はそれに近いものとなることが期待される。これに対し、ノイズの影響を受けた場合には図3(a)に示すように、ノイズの影響を受けていない小区間のカウント値が形成する分布44から外れた位置に、ノイズの影響を受けたイベント46が現れる。

【0027】本装置においては、ノイズの影響を受けた場合と受けない場合とでの上述のようなヒストグラムの相違が統計的手法により検知され、これにより、計測期間 T 中にノイズを受けたか否かを判断することができる。また、その過程において、ノイズの影響を受けたイベント46が特定される。

【0028】例えば正常時の分布40として正規分布を仮定できる場合には、ヒストグラムの相違を検知する方

法として χ^2 検定を用いることができ、また、かけ離れたイベント46を特定する方法としてスミルノフの棄却検定を用いることができる。

【0029】さらに本装置では、ノイズの影響を受けた小区間のカウント値がノイズの影響を受けなかった場合に採るであろうと推定される値に置換され、その上で計測期間 T に属する全小区間のカウント値が合計される。これによりノイズの影響が除去された化学発光量の計測値が得られる。

10 【0030】図4は、データ処理部26における処理を説明するためのフロー図である。データ処理部26は例えば小型計算機を用いて構成される。測定の開始に際して、データ処理部26へは、測定条件が例えばキーボード等の入力手段を用いて設定される(S60)。測定条件としては、例えば、化学発光反応の種類等、発光強度の経時変化を特定するための情報が入力される。

【0031】所定の計測期間 T にわたって時間幅 ΔT の小区間毎に、計数回路24からのカウント値がデータ処理部26へ入力される(S65)。

20 【0032】次にデータ処理部26は、データ記憶部28を検索して、ステップS60にて設定された条件に応じた発光強度特性を読み出す(S70)。発光強度が時間に依存した関数であると、異なる時刻で取得される一群のカウント値は一般に正規分布に従わなくなり、統計処理の負荷が増える。そこで、データ処理部26は、検査の要求精度に基づいて、計測期間 T における発光強度の時間依存性を無視して正規分布としての統計処理を行うことが許容されるか否かを判断する(S75)。許容されない場合には、規格化して発光強度の時間依存性を解消する規格化処理S80を行った後、ヒストグラム評価処理S85に移行する。一方、許容される場合には、規格化は行われずにヒストグラム評価処理S85が実行される。

【0033】規格化処理S80は、各カウント値を、当該カウント値を得た時刻における発光強度特性の関数値で除算する処理である。

【0034】ヒストグラム評価処理S85に渡される一群のカウント値は、発光強度の時間依存性を除去されたか、又はそれを無視することができるものであるため、基本的には正規分布に従うことが期待される。一方、ノイズの影響を受けたカウント値は、その正規分布から外れることが期待される。そこで当該処理S85では、 χ^2 検定、スミルノフ棄却検定によって、正規分布から外れたカウント値を検知し、これをノイズによるものとし、当該カウント値が得られた小区間をノイズ区間とする。

40 【0035】ノイズ区間が検知された場合には(S90)、対応するカウント値は、ノイズがなかった場合に得られたであろうと推定される値に置換された後(S95)、積算処理S100に移行する。この推定値としては、規格化処理S80が行われなかった場合には例えば

他のカウント値の平均値を採用することができる。規格化処理S80が行われた場合には、規格化後のカウント値の正規分布の中心値に、ノイズ区間における発光強度特性の関数値を乗算して得られる値を推定値とすることができる。なお、ノイズ区間が検知されなかった場合には、置換処理は行われずに積算処理に移行する。

【0036】積算処理S100は、計測期間に含まれる全小区間のカウント値を合計する処理である。ちなみに、規格化処理S80を行った場合に合計される各小区間のカウント値は、置換が行われなかった小区間においては規格化前のカウント値であり、置換が行われた小区間においては上記推定値である。

【0037】

【発明の効果】本発明の化学発光分析装置によれば、計測期間中に発光強度特性から大きく外れた偽計数を生じするようなノイズの発生を検知することができ、またその影響を除去することができるという効果が得られる。また、そのノイズの検知、補正に際して、化学発光反応の経時変化が考慮されることにより、一層、精度の高い化

学発光分析が可能となるという効果がある。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の実施形態である化学発光分析装置の概略のブロック構成図である。

【図2】 ノイズを被った場合と被らなかった場合との発光強度測定値の経時変化の例を示す模式図である。

【図3】 ノイズを被った場合と被らなかった場合との小区間毎のパルスカウント値のヒストグラムである。

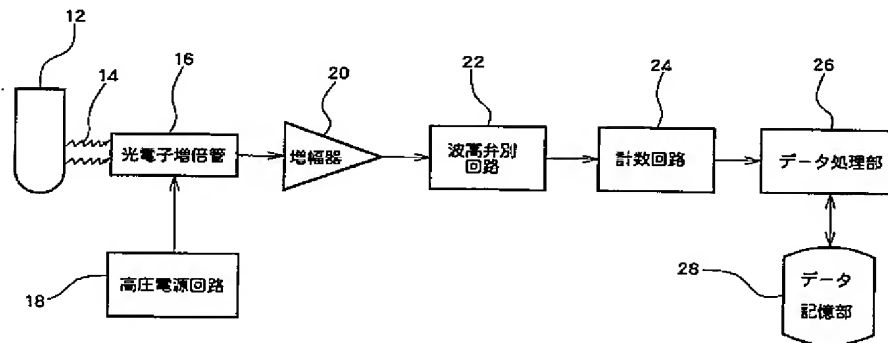
【図4】 データ処理部における処理を説明するためのフロー図である。

【図5】 従来の化学発光分析装置の問題を説明するための化学発光強度測定値の経時変化の例を示す模式図である。

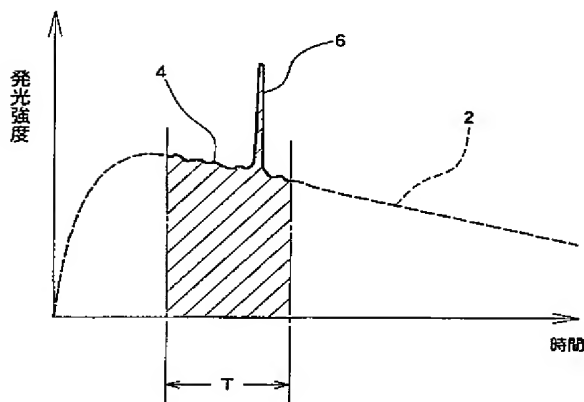
【符号の説明】

12 試料容器、14 フォトン、16 光電子増倍管、18 高圧電源回路、20 増幅器、22 波高弁別回路、24 計数回路、26 データ処理部、28 データ記憶部。

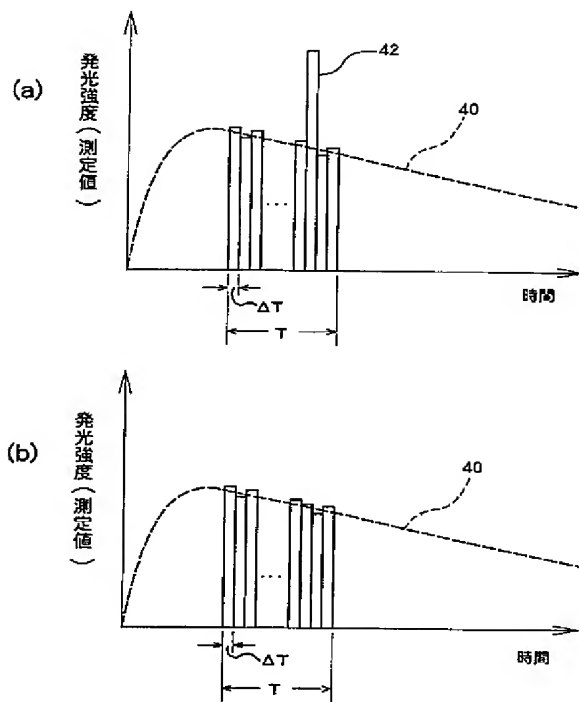
【図1】



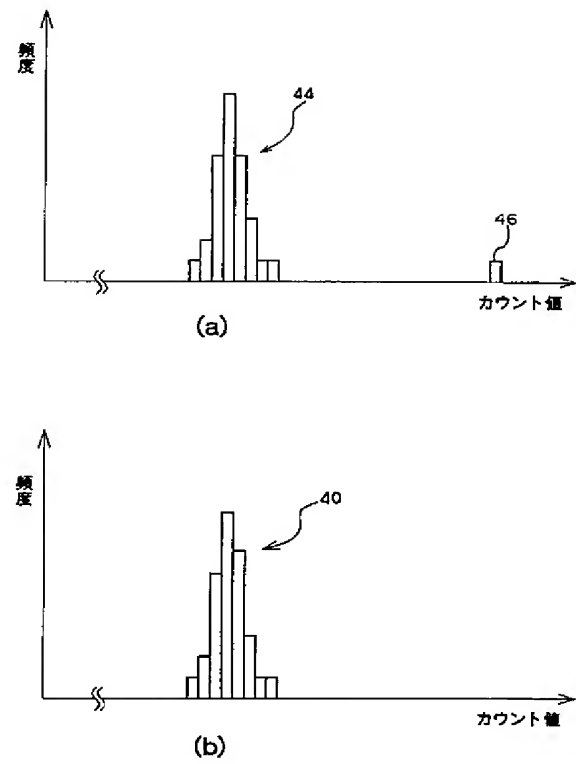
【図5】



【図2】



【図3】



【図4】

